Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. E. Kern

DIE HISTOLOGIE DER FRAKTURHEILUNG BEI INFEKTION AUS BIOMECHANISCHER SICHT

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Paul Bambeck
aus Aschaffenburg

Würzburg, 13.11.1979

1980

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. E. Kern

DIE HISTOLOGIE DER FRAKTURHEILUNG BEI INFEKTION AUS BIOMECHANISCHER SICHT

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Paul Bambeck
aus Aschaffenburg

Würzburg, 13.11.1979

Referent:	Priv.-Doz. Dr. med. B. Friedrich
Korreferent:	Professor Dr. med. E. Kern
Dekan:	Professor Dr. med. K.H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 14.1.1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung 1

1.1. Problematik 1

1.2. Fragestellung 2

2. Literaturüberblick 4

2.1. geschichtlich 4

2.2. sachlich 4

2.3. klinisch 7

2.4. Aufgabenstellung 8

3. Experimentelle Untersuchungen 10

3.1. Material 10

3.2. Methodik 10

3.2.1. Operatives Vorgehen 10

3.2.2. Keimbeimpfung 12

3.2.3. Markierung mit Fluorochromen 12

3.2.4. Gefäßdarstellung 14

3.2.5. Herstellung der mikroskopischen Präparate 15

4. Ergebnisse 18

4.1. Tabellarische Auflistung der Daten sowie der Ergebnisse der fluoreszenzmikroskopischen Beurteilung 18

4.2. Allgemeine Besprechung der Ergebnisse aus der Fluoreszenzmikroskopie 26

4.2.1. Anfärbung der Präparate 26

4.2.2. Callus 26

4.2.3. Resorptionsvorgänge 27

4.2.4. Umbauvorgänge im Cortexbereich 28

4.2.5. Heilungsvorgänge im Frakturspalt 30

4.3. Besprechung der histologischen Besonderheiten der einzelnen Gruppen 31

4.3.1. Gruppe C 31

4.3.2. Gruppe D 32

4.3.3. Gruppe E 33
4.3.4. Gruppe F 34
5. Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse 35
5.1. Allgemeines 35
5.2. Fluorochrom-Markierung 36
5.3. Zeitliche Einordnung der Heilungsverläufe 37
5.4. Histologie 38
5.5. Frakturheilung 40
5.6. Wechselwirkung Infektion - Frakturheilung 41
6. Schlußfolgerung und klinischer Ausblick 43
7. Zusammenfassung 44
8. Literaturverzeichnis 47

1. EINLEITUNG

1.1 Problematik

"Die Osteomyelitis stellt in ihrer akuten und chronischen Form ein altbekanntes und festumrissenes Krankheitsbild dar" (28). Dieser 1954 geprägte Ausspruch KÜNTSCHERs hat auch heute noch seine volle Gültigkeit. Dabei unterscheidet man bei der Osteomyelitis eine hämatogene oder endogene sowie eine posttraumatische oder exogene Form. Die hämatogene oder endogene Osteomyelitis, meist als Erkrankung des Kindes- und Jugendalters dargestellt, ist dem Wesen nach eine bakterielle Infektionskrankheit mit Organmanifestation im Knochen.

Aus hämatogenen Streuherden wie Furunkeln, Phlegmonen und infizierten Wunden siedeln sich die Keime in den gefäßreichen Meta- und Epiphysen der Knochen an (3, 17).

Bei der posttraumatischen oder exogenen Osteomyelitis gelangen die Keime aus der Umwelt direkt in eine Knochenwunde, sei es bei einer offenen Fraktur, durch operative Versorgung primär gedeckter Frakturen oder durch Knochenoperationen (zit. n. 12).

Dabei wird vor allem im angelsächsischen Schrifttum gern statt der Bezeichnung "Osteomyelitis" der Begriff "Ostitis" oder "Osteitis" verwendet.

Kommt es durch eine bakterielle Infektion zu einer Komplikation bei offenen oder operativ geöffneten Frakturen, spricht man dann von der sogenannten "posttraumatischen Osteitis" (zit. n. 12).

Im klinischen Alltag sind die akuten Verlaufsformen der Osteomyelitis gegenüber den chronischen etwas in den Hintergrund getreten. Vermutlich ist dies auf die häufige Anwendung von Antibiotika zurückzuführen. Es stellt allerdings ein immer ernster werdendes Problem dar, daß die Resistenz der Erreger gegenüber den gebräuchlichen Antibiotika im Zunehmen begriffen ist (3, 24).

Da die chirurgische Versorgung offener und auch geschlossener Frak-

turen mit den verschiedenen Methoden der Osteosynthese immer häufiger geübt wird, besteht vermehrt die Gefahr einer exogenen oder posttraumatischen Knocheninfektion. Früher stand praktisch nur die hämatogene oder endogene Osteomyelitis im Vordergrund des Interesses (24). Der häufigste Erreger bei beiden Osteomyelitisformen ist Staphylokokkus areus mit einer Beteiligung von 54,4 - 95 %. In sehr viel geringerem Prozentsatz kommen auch Streptokokken oder Erreger der Proteus- und Pseudomonasgruppe in Frage (3).

Experimentelle Arbeiten über die verschiedenen Möglichkeiten der Osteosynthese und der damit verbundenen Probleme liegen in großer Anzahl vor (1, 2, 12, 14, 18, 32, 33 u.a.). Allen diesen Arbeiten ist gemeinsam, daß sie stets die Frakturheilung unter aseptischen Kautelen untersuchen. Die Zahl der Veröffentlichungen über die Frakturheilung unter septischen Voraussetzungen ist wesentlich geringer (LUBEGINA, RITTMANN, PERREN, FRIEDRICH). Insofern liegen kaum Untersuchungen darüber vor, inwieweit die Heilungsvorgänge einer Fraktur durch eine lokale Infektion beeinfluß werden. FRIEDRICH hat im besonderen untersucht, in welchem Maße biomechanische Momente auf die Heilung einer infizierten Fraktur einwirken. Dabei wurden die Druckplattenosteosynthese und die Marknagelung unter Keimbeimpfung der Frakturzone an der frakturierten Kaninchentibia erprobt. Die Auswertung seiner Versuchsreihen erfolgte mit Hilfe entkalkter und mit H.E. und v. Gieson gefärbter Knochenpräparate. Ein Teil der Knochen wurde für die Auswertung mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie vorbereitet (12).

1.2. Fragestellung

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es nun, die vorbereiteten Knochenstücke aufzuarbeiten und fluoreszenzmikroskopisch zu beurteilen. Es war die Frage, ob auf diese Weise zusätzliche Informationen zu gewinnen sind, die mit der Lichtmikroskopie nicht erhalten werden können. Besonderer Wert wurde auf die Histologie der Frakturheilung ge-

legt. Das Hauptaugenmerk war dabei auf den Heilungsvorgang, insbesondere auf die Mineralisationsvorgänge, den Heilungstyp und den zeitlichen Verlauf der Frakturheilung unter septischen Verhältnissen gerichtet. Besonders interessierte dabei, in welchem Maße biomechanische Momente auf die Frakturheilung bei bestehender Infektion einwirken.

2. LITERATURÜBERBLICK

2.1 geschichtlich

Daß für eine Frakturheilung bestimmte mechanische Momente eine Rolle spielen, vermutete man schon seit langem. Die ersten Annahmen hierfür stammen aus dem Jahre 1892 von Julius WOLFF und Wilhelm ROUX. Allerdings wurden ihre Vorstellungen, daß sich Zellen durch Druck, Zug, Druck und seitlichen Schub zu Knochen-, Sehnen- und Knorpelgewebe ausdifferenzieren, durch spätere Untersuchungen, z. B. 1934 und 1936 durch KROMPECHER, präzisiert und modifiziert. KROMPECHER war der erste, der die mechanische Ruhe als Voraussetzung für eine Osteogenese ansah. Wenn der auslösende Reiz der Druck sei, geschehe die Ruhigstellung über das Knorpelgewebe, bei Zug über bindegewebige Elemente. Nach KROMPECHER forderten noch mehr Autoren die mechanische Ruhe als Bedingung für die Osteogenese, wie PAUWELS und WURMBACH (21).

2.2 sachlich

Schon früher bediente man sich der Ruhigstellung, um eine gute Frakturheilung zu erzielen. So sind Schienen aus den verschiedensten Materialien bereits sehr lange in Gebrauch und stellen auch heute noch in der Form der Gipsschiene das am meisten benutzte Mittel zur Frakturversorgung dar.

KÜNTSCHER genügte diese Art der äußeren Ruhigstellung nicht. Er entwickelte deshalb die "innere Frakturschienung mit Markraumnägeln" (21). Damit war er der Wegbereiter und ein eifriger Verfechter der stabilen Osteosynthese, die es zuläßt, größtmögliche Ruhe zwischen den Fragmentenden zu schaffen. Er bestätigte damit die Auffassung früherer Autoren, wie PAUWELS und KROMPECHER, daß erst mechanische Ruhe die Voraussetzungen für eine Neubildung und Heilung von Knochen schaffe.

Schon früh wurde erkannt, daß sich der Frakturspalt durch Resorptionsvorgänge erweitert und somit die Heilung erschwert wird. Man wandte daher mit den verschiedensten Mitteln Fragmentkompressionen an, um dieser Resorption vorzubeugen (KEYL, GREIFENSTEINER, ZOHLEN, MAATZ, zit. nach 21). MATZEN fand dann, daß hierbei nicht der Druck direkt die Heilung begünstigt, sondern die Ruhigstellung durch Zusammenpressen der Frakturenden verbessert wird (21). Bei diesen Versuchen machte man die Erfahrung, daß der Callus um so geringer ausgebildet wird, je besser die Ruhigstellung ist.

Von DANIS, M. E. MÜLLER und Mitarb. wurde später eine primäre und eine sekundäre Knochenheilung unterschieden. Eine callusfreie Heilung wird als primäre Heilung angesehen, während Callusbildung als beweisend für eine sekundäre Heilung gilt. Bei einer stabilen Osteosynthese sei eine callusfreie Heilung möglich (21).

Nach KÜNTSCHER ist das Merkmal einer primären Heilung "die sofortige knöcherne Überbrückung des Bruchspaltes ohne Auftreten eines Vorstadiums" (22), d. h. die Überbrückung des Frakturspaltes durch direktes Hinüberwachsen der Osteone. Eine übermäßige Callusbildung wird sogar als nachteilig angesehen, da jeder Callus durch den Reiz einer Entzündung entstehe, wobei die Ursache der Entzündung ohne jeden Belang sei. Callusbildung spreche daher für das Vorhandensein entzündlicher Veränderungen. So gebe es sogar eine Beziehung zwischen dem Ausmaß der Entzündung und der Größe des ausgebildeten Callus (22).

R. SCHENK und H. WILLENEGGER (36) sprechen von primärer Knochenheilung, wenn der Frakturspalt sofort mit hochorganisiertem Lamellenknochen ausgefüllt wird. Erfolgt die Frakturheilung aber schrittweise über Gewebe verschiedenen Differenzierungsgrades, so spricht man von sekundärer Knochenheilung. Dabei wird der Callus - sei es bindegewebiger oder knorpeliger - durch desmale oder chondrale Ossifikation in Faserknochen umgewandelt. Dieser Faserknochen kann

dann später in lamellär gebauten Knochen übergehen. Diese Vorgänge sind ganz ähnlich denen bei der embryonalen Knochenentwicklung.

SCHENK und WILLENEGGER (35, 36) konnten mit Hilfe stabiler Druckplattenosteosynthesen zeigen, daß auch beim Menschen primäre Heilungen möglich sind, wobei kaum endostaler oder periostaler Callus entsteht. Die Durchbauung des Frakturspaltes erfolgt dabei stets entweder durch quer oder längs gerichteten Lamellenknochen. Die Untersuchungen ergaben, daß osteogenetische Potenz direkt aus der Corticalis kommen kann (35, 36). Dies erfolgt durch sog. "creeping substitution" (1), d. h. ein "Bohrkopf" aus Blutgefäßen, Osteoklasten und mesenchymalen Zellen dringt zur Osteotomiespalte vor, schafft einen Kanal, der sofort durch Osteoblasten knöchern ausgefüllt werden kann, die sog. angiogene Ossifikation.

Diese Heilungsvorgänge verlangen aber eine stabile Osteosynthese, wenn möglich unter axialem Druck. Bei der sekundären Knochenheilung wird die Ruhigstellung im Frakturbereich durch das Callusblastem erzeugt, das nach den Untersuchungen von WILLENEGGER et al. (47) zusätzliche Stabilität gewinnt durch einen inneren Wachstumsdruck, der an der osteotomierten Schafstibia bei 50 kp liegt.

Eine andere Auffassung zu dem bisher Gesagten vertritt GEISER (14). Nach seiner Ansicht gibt es bei der Schaftfraktur keine primäre Heilung, selbst wenn die Frakturenden stabil miteinander fixiert sind. Er hält eine Callusbildung für unumgänglich, obwohl diese auch primär knöchern sein kann. Ebenso verneint er entschieden, daß regenerierende Prozesse direkt aus den Fragmentenden kommen. Ihren Ursprung sieht GEISER nur im Callus.

Wie bei jedem Heilungsprozeß, ist auch bei der Frakturheilung die Blutversorgung von entscheidender Bedeutung (1, 2, 8, 11, 30, 31, 32, 33, 47). L. D. DAMBE und A. van de BERG (8) haben sich mit der Vaskularisation nach stabiler extra- und intramedullärer Osteosyn-

these beschäftigt. Bei ihren Versuchen an der osteotomierten Hundetibia fanden sie, daß sich das Gefäßsystem bei beiden Methoden - Marknagel- und Druckplattenosteosynthese - sehr schnell wieder aufbaut, sofern die Fraktur ausreichend stabilisiert ist. Die höchste Gefäßaktivität liegt zwischen dem 7. und 40. Tag post operationem. Der Hauptteil der Regeneration fällt dabei dem medullären Gefäßsystem zu, während die periostale Gefäßreaktion gering und unbedeutend bleibt. Infektionen und instabile Verhältnisse verändern die Revaskularisation der Fragmentenden nur in zeitlicher und lokaler Hinsicht, durch längere Dauer und Callusbildung (2).

F. W. RHINELANDER (30, 31) kam im wesentlichen zu dem gleichen Schluß, betont aber, daß sich der gewöhnliche zentrifugal gerichtete Blutstrom, d. h. vom Mark zum Cortex hin, umkehren kann, wenn die Markgefäße insuffizient geworden sind. Die Ernährung des Röhrenknochens wird dann durch eine Strömungsumkehr in zentripetaler Richtung durch die periostalen Gefäße, die weniger anfällig als die medullären sind, aufrecht erhalten.

2.3 klinisch

In der Klinik ist die Zahl der operativen Osteosynthesen heute besonders bei offenen oder ausgedehnten Frakturen im Zunehmen begriffen. Dies begünstigt entweder sofort beim Trauma (offene Fraktur) oder später bei der Operation (geschlossene Fraktur) eine Kontamination mit pathogenen Keimen. So kann es zu einer bakteriellen Entzündung der sog. posttraumatischen Osteitis führen. Sie unterscheidet sich von der hämatogenen Form der Erkrankung durch das direkte Eindringen der Erreger in die Knochenwunde. Bei der hämatogenen Form erfolgt die Erregerinvasion auf dem Blutwege von meist unauffälligen Krankheitsherden ausgehend, wie Furunkeln oder Anginen usw. (3). Allerdings müssen für das Angehen einer hämatogenen Osteomyelitis stets mehrere Faktoren zusammenwirken. So werden Traumatisierung und

besondere Immunitätssituationen des Organismus diskutiert (3).

Bei der posttraumatischen Osteitis ist der Mechanismus einfacher. So erleichtern die durch die Verletzung gestörte Vaskularisation und das Frakturhämatom das Angehen der Infektion. Das pathologisch-histologische Erscheinungsbild der Entzündung ist bei beiden Formen der Knocheninfektion gleich und erfaßt immer alle Bauelemente des Knochens (23, 24). Die Osteitis wird in der Mehrzahl der Fälle durch Bakterien hervorgerufen. Es gibt aber auch, wie KÜNTSCHER (23) bewiesen hat, eine aseptische Form der Osteitis. Sie kann durch chemische, thermische und mechanische Reize hervorgerufen werden. Ihr Erscheinungsbild, klinisch wie histologisch, gleicht weitgehend dem der bakteriellen Entzündung.

2.4 Aufgabenstellung

Bei der operativen Versorgung einer (offenen) Fraktur durch eine Osteosynthese wird das Auftreten einer Osteitis im postoperativen Verlauf heute häufig als therapeutischer Mißerfolg angesehen (12). Allerdings ist noch wenig bekannt, ob und in welcher Weise eine Wechselwirkung besteht zwischen Infektion und Stabilitätsverhältnissen einerseits und ihren Einflüssen auf die Frakturheilung andererseits. Die Zahl von Veröffentlichungen und Experimenten zu dieser Fragestellung ist bisher gering (12, 33). In der vorliegenden Arbeit soll ein Beitrag zu diesem Problemkreis geleistet werden. Dies soll mit Hilfe von Knochenpräparaten aus tierexperimentellen Versuchen, die fluoreszenzmikroskopisch ausgewertet werden, geschehen.

Die Fragestellung hierbei ist folgende:

Wie stellen sich

- Heilungsvorgang (besonders Mineralisation, Callusbildung, Resorptionsvorgänge),
- Heilungsdauer,

- Heilungstyp

im vorliegenden Untersuchungsgut fluoreszenzmikroskopisch dar?

Welche Einflüsse haben Stabilitätsverhältnisse und Infektion auf die Histologie der Frakturheilung?

Bestehen Wechselwirkungen zwischen Graden unterschiedlicher Stabilität der Fraktur und dem Angehen einer Infektion?

3. EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material

Zur Untersuchung kamen vier Gruppen von unterschiedlich behandelten Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Durchschnittsgewicht von 2,67 kg.

I. Gruppe C: bestehend aus 8 Tieren. Anschrauben einer Osteosyntheseplatte an die nichtfrakturierte Tibia. Lokale Keimbeimpfung.

II. Gruppe D: bestehend aus 11 Tieren. Frakturierung der Tibia, anschließend Stabilisierung mit Druckplattenosteosynthese.

III. Gruppe E: bestehend aus 4 Tieren. Marknagelosteosynthese nach vorheriger Tibiaquerfraktur.

IV. Gruppe F: bestehend aus 13 Tieren. Versorgung einer Tibiaquerfraktur mit Druckplattenosteosynthese. Lokale Keimbeimpfung.

3.2 Methodik

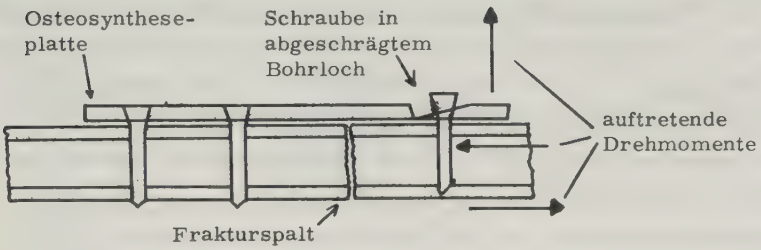
3.2.1. Operatives Vorgehen

Zur Kontinuitätsdurchtrennung des Knochens wählten viele Experimentatoren bei ihren Versuchen die Sägeosteotomie (2, 33, 36). Dies führt zu unnatürlichen Verhältnissen am "Frakturspalt", birgt die Gefahr von Hitzenekrosen an den Fragmentenden und führt außerdem zu Schwierigkeiten bei der operativen Stabilisierung hinsichtlich Rotation (12).

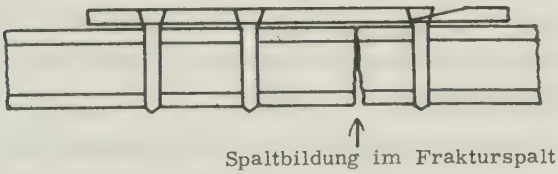
Zur Vermeidung dieser Gefahren und um natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen, wurde an der Kaninchentibia eine echte Fraktur durch Biegeüberbeanspruchung hervorgerufen. Dies geschah durch ein eigens konstruiertes Gerät, das nach dem 3-Punkte-System an der Tibia angreift (12). Dabei wurde die Corticalis an der Konvex-

seite der Biegung vorher durch einen kleinen Einschnitt geschwächt. Dieses Vorgehen führte zu einer glatten Querfraktur der Tibia, die nun infolge der natürlichen Zähnelung der Fragmentenden operativ gut zu stabilisieren war (12).

In Trapanalnarkose wurde die frakturierte Tibia mit Hilfe einer 8-Loch-Doppelplatte aus dem Kleinfragmentinstrumentarium der Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen nach idealer Reposition ruhiggestellt. Eine 8-Loch-Doppelplatte, die an sich für eine Kaninchentibia überdimensioniert ist, mußte wegen der notwendigen, sofortigen postoperativen Übungsstabilität verwendet werden (12). Der notwendige interfragmentäre Druck wurde durch Schrägfeilen der vorletzten Plattenlöcher erreicht, auf denen der Schraubenkopf gleiten konnte. Beim Anziehen der Schrauben wurden dadurch die Fragmentenden gegeneinandergepreßt.



Dieses Vorgehen erzeugte auf den Frakturspalt in Plattennähe eine Kompression. Allerdings entstand dafür auf der gegenüberliegenden Seite ein Drehmoment in entgegengesetzter Richtung. Dadurch kam es hier zu einer Spaltbildung (36). Diese ist für die Beurteilung der Ergebnisse von wesentlicher Bedeutung.



Diese Operationsmethode stellt den Typ der stabilen Osteosynthese dar. Die instabilen Osteosynthesen wurden mittels eines 80 - 100 mm langen Kirschnerdrahtes (V4A-Stahl) durchgeführt, der nach Reposition der Fraktur vom Tibiakopfbereich aus in die Markhöhle eingebracht wurde.

3. 2. 2 Keimbeimpfung

Die Keimbeimpfung wurde nach Verschluß der Operationswunde durch eine intraoperativ an den Frakturspalt gelegte Kanüle durchgeführt. Als Keime wurden Bakterien des Stammes Staphylokokkus aureus S G 511 verwendet. Da die Anzahl der Keime für das Angehen der Infektion je nach Gewebe unterschiedlich ist, hat FRIEDRICH (12) Vorversuche diesbezüglich gemacht. Für eine lokale Infektion des Knochens ergab sich eine Zahl von 10^5 Keimen (das entspricht $3,7^5$ Keimen/kg Durchschnittsgewicht) als ausreichend. Dieser Keim ist Koagulasebildner und hinsichtlich seiner Eigenschaften qualitativ und quantitativ exakt bestimmbar. Die Keime wurden in 0,1 ml physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und gegen Ende der Operation direkt an den Frakturspalt appliziert (12). Staphylokokken wurden gewählt, da sie bei der Entstehung der traumatischen Osteitis zwar nicht so im Vordergrund stehen wie bei der hämatogenen Osteomyelitis, aber auch hier gegenüber anderen Keimen häufiger vertreten sind. Im Gegensatz zur hämatogenen Osteomyelitis sind bei der posttraumatischen Osteitis aber praktisch alle Keime aus der Wundumgebung als Erreger denkbar (3).

3. 2. 3 Markierung mit Fluorochromen

Um eine fluoreszenzmikroskopische Aufarbeitung zu ermöglichen, wurden bei allen Tieren vier fluoreszierende Substanzen in einer bestimmten sich wiederholenden Sequenz gespritzt.

Tetrazykline, die meist für das Markieren von Umwandlungsvorgän-

gen im Knochen benutzt werden (4, 6, 9, 10, 13, 18, 25 u.a.), konnten hier nicht verwendet werden. Sie haben bekanntermaßen antibiotische Wirksamkeit (6, 7, 9, 10, 18) und wären in der Lage gewesen, die eingebrachten Bakterien in ihrer Virulenz zu beeinträchtigen.

Zur Anwendung kamen andere Fluorochrome, die in jüngerer Zeit als tauglich zur Knochenmarkierung erkannt wurden (5, 27, 28, 29, 33). Zuerst wurde Calzein-Blau in einer Dosis von 1 ml/kg zwei Tage vor der Operation gespritzt. Xylenolorange 3 ml/kg, Calzein (DCAF) 0,66 ml/kg und Alizarinkomlexon 1 ml/kg wurden danach jeweils in einwöchigem Abstand injiziert. Die Reihenfolge der Stoffe und der einwöchige Abstand wurden bis zum Tod der Versuchstiere beibehalten. Die Injektion erfolgte in eine Ohrvene (12).

Tabelle 1: Substanzen und Reihenfolge der Fluoreszenzmarkierung

Substanz	Dosis ml/kg Körpergewicht	Zeitpunkt
Calzeinblau	1 ml/kg	2 Tage vor der Operation
Xylenolorange	3 ml/kg	5 Tage nach Op.
Calzein	0,66 ml/kg	12 Tage nach Op.
Alizarin-komplexon	1 ml/kg	19 Tage nach Op.
Calzeinblau	1 ml/kg	26 Tage nach Op.
Xylenolorange	3 ml/kg	33 Tage nach Op.
Calzein	0,66 ml/kg	40 Tage nach Op.
Alizarin-komplexon	1 ml/kg	47 Tage nach Op.
"	"	"
	usque ad finem	

Calzeinblau, Xylenolorange, Calzein und Alizarinkomplexon eignen sich zur Markierung des zeitlichen Ablaufs von Umbau-, Heilungs-

und Wachstumsvorgängen im Knochen. Diese Substanzen werden an der gleichen Stelle im Knochen abgelagert wie die Tetrazykline (5, 27, 28, 29).

Die Tetrazykline werden in den Knochen eingebaut, der am Stoffwechsel des übrigen Organismus gerade Anteil hat, sog. "metabolic bone". Diese Stellen sind die Appositionszonen der Osteone sowie der peri- und endostalen Knochen. Tetrazykline sind in der Lage, mit Metallionen und Calcium Komplexe zu bilden (18). Nach IBSEN und URIST schafft das Tetrazyklinmolekül eine Verbindung - sog. Chelate - zwischen den Calciumionen des Apatits - das ein Bestandteil der Kollagenfibrillen ist - und den Metallionen von Mukopolysacchariden (zitiert nach 18). Diese Chelate sind stabil und verbleiben im Knochen. Von den hier benutzten Substanzen ist der genaue Bindungsmechanismus nicht bekannt.

Von Xylenolorange weiß man lediglich, daß es mit bivalenten Metallionen Komplexe bildet (29). Calziumblau ist als Indikator für eine Komplexbindung mit Ca, Sr und Ba bekannt (28). Die Toxizität und der Einfluß dieser Substanzen auf wachsenden oder im Umbau befindlichen Knochen sind vernachlässigbar gering (27, 28, 29).

Allen Stoffen ist gemeinsam, daß sie durch Bestrahlung mit UV- und Blaulicht zur Aussendung von Farben angeregt werden:
Calzeinblau — Blau, Xylenolorange — Orange, Calzein — Gelbgrün, Alizarinkomplexon — Rot. Die Farben sind gut voneinander abzugrenzen.

3.2.4 Gefäßdarstellung

Zur Darstellung des Gefäßsystemes wurde eine erwärmte Mischung von Gelatine und Tusche im Verhältnis 1 : 1 unter Trapanalbetäubung (2,5 %ig) nach Laparotomie in die Aorta abdominalis injiziert, bis der Tod eintrat (12).

3.2.5 Herstellung der mikroskopischen Präparate

Das die Frakturzone enthaltende Knochenstück wurde nach Herauslösen in der Mitte längs durchgesägt. Die eine Hälfte kam zur histologischen Aufarbeitung für die Lichtmikroskopie; der andere Halbzylinder wurde für die Fluoreszenzmikroskopie vorbereitet. Dazu wurden die Knochen in Methyl-Methacrylat nach folgendem Verfahren eingebettet: Einbringen der Präparate in die aufsteigende Alkoholreihe, wobei sie je 3 Tage in 80 %igem und 96 %igem Alkohol, danach 3 mal je einen Tag in täglich gewechselten absolutem Alkohol und 3 Tage in Xylol blieben. Danach erfolgte die Einbettung in Methacrylat: 3 Tage in Methyl-Methacrylat I (pur), 1 Woche in Methylacrylat II (= Methylacrylat I plus 2 g Benzoyl-Peroxyd pro 100 ml), und schließlich in Methylacrylat III (= Methylacrylat I plus 4 g Benzoyl-Peroxyd plus 25 ml Plastoid N/100 ml). Der Härtungsvorgang erfolgt im Wasserbad. Die Einbettung der Präparate in das Methyl-Methacrylat wurde freundlicherweise vom Schweizerischen Forschungsinstitut in Davos (Leiter PD. Dr. med. S. M. PERREN) vorgenommen, da uns mangels eigener labortechnischer Einrichtungen die Möglichkeit der entsprechenden Aufarbeitung fehlte (12).

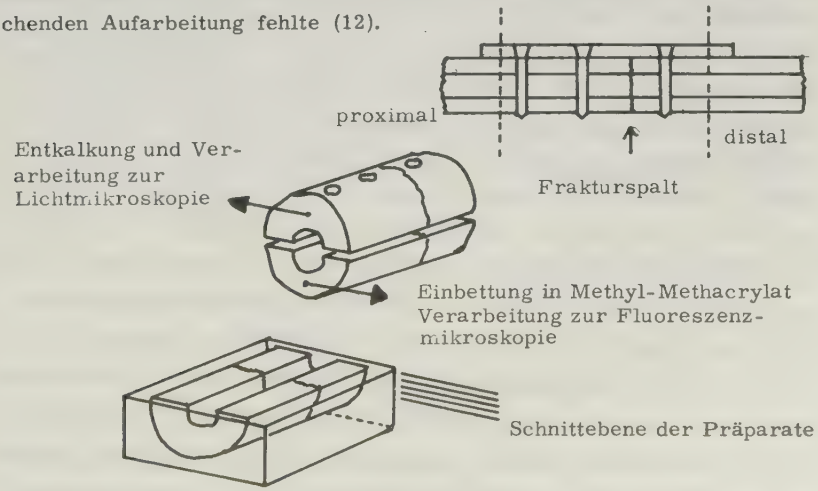


Abb. 1: Verarbeitungsweg der Knochenzylinder

Die auf diese Weise präparierten Methyl-Methacrylatblöcke wurden auf folgende Weise weiterbearbeitet:

Die planparallelen Methyl-Methacrylatblöcke wurden mit der dem Knochenlängsschnitt gegenüberliegenden Seite auf eine 3 mm starke, objektträgergroße, gut entfettete Plexiglasplatte aufgeklebt (Kleber Eastman 910 Aedhisive von Kodak). Mit dem gleichen Klebstoff wurde auf der Präparatseite eine weitere Plexiglasplatte aufgebracht, die in ihren Abmessungen genau einem herkömmlichen Glasobjektträger entspricht. Für diese Art von Verarbeitung war Plexiglas notwendig, da gewöhnliches Glas zu spröde ist. Die optischen Eigenschaften des Plexiglases sind denen des normalen Objektträgerglases gleichwertig.

Die Schnitte wurden mit einer halbautomatischen Säge des Typs Universal-Trennmaschine Typ Woco 50 Med Spezial (mit galvanisch gebundener Diamantscheibe; Hersteller Wolfgang Conrad, Clausthal-Zellerfeld) hergestellt. Dabei wurde der Methyl-Methacrylatblock mit der dicken Plexiglasplatte an einer durch eine Wasserstrahlpumpe betriebenen Unterdruckhalterung befestigt. Diese Halterung schob den Block automatisch durch das Diamantsägeblatt. Dadurch wurden planparallele Schnitte gewährleistet. Pro Methyl-Methacrylatblock wurden durchschnittlich 4 Schnitte angefertigt. Die Schnittdicke betrug 200 µ, die Schnittdauer jeweils 20 - 30 Minuten. Das Sägeblatt wurde mit Wasser gekühlt, um ein Erhitzen und Schmierigwerden des Methyl-Methacrylatblocks zu verhüten. Anschließend wurden diese Präparate auf einer Schleifbank mit feinstem Diamantschleifpapier (30-5160 AB HANDIMET Paper Strips Grit 600, Grit 400 von Buehler Ltd., Evanston Illinois, USA) auf 30 - 40 µ von Hand mit Hilfe eines einstellbaren Schleifklotzes naß heruntergeschliffen. Die Stärkenkontrolle erfolgte mit einem Mikrometer. Die Schleifspuren wurden dann mit auf Filztellern verteilter Diamantpaste der Körnungen 5 - 10 µ beseitigt. Die Präparatestärke von 30 - 40 µ ergab sich aus einer Versuchsreihe von 10 - 100 µ in 10 µ-Schnitten. Die farbkräftigsten und nicht über-

lagerten Farbbänder ergaben sich bei Präparatestärken von 30 - 40 µ. In dieser Präparatstärke ist die Dicke der Klebstoffschicht inbegriffen, die 5 - 10 µ beträgt. In der Literatur werden über die optimalen Präparatestärken stark divergierende Angaben gemacht. FROST und Mitarbeiter (13) geben die ideale Präparatedicke mit 50 µ an. EGER (9) arbeitete bei 15 - 20 µ; OLERUD und LORENZI (26) bei 60 - 80 µ.

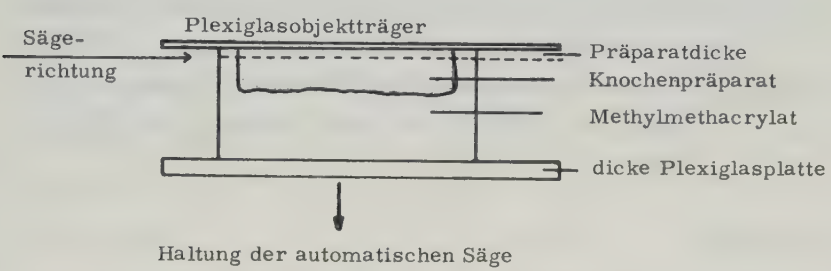


Abb. 2: Vorgehen beim Sägen der planparallelen Schnitte

Die herkömmliche Schleiftechnik, nämlich zwischen 2 mit Carborundum aufgerauhten Glasplatten (12, 34), wurde verlassen, da mit dieser Methode gute Präparate nur schwer herzustellen sind. Hier werden die Schnitte nicht planparallel, was eine mikroskopische Auswertung sehr erschwert. Außerdem besteht die Gefahr, das Präparat zu zerreißen, je dünner der Schliff wird. Dadurch kann die ursprüngliche Struktur verändert werden, was die mikroskopische Beurteilung praktisch unmöglich macht.

Die so angefertigten Präparate wurden mit einem Zeiss-Photomikroskop mit Durchlicht-Fluoreszenzeinrichtung und Quecksilberlampe H 30 200 W ausgewertet (Erregerfilter Zeiss BG 38/25 und B 3/4, Sperrfiltereinsatz im Zwischentubus Zeiss 44 und Zeiss 50). Die Vergrößerung betrug 6,3 x 12,5, circa 80fach.

Es folgen nun die tabellarische Auflistung der wissenswerten Daten sämtlicher Tiere sowie die Ergebnisse der fluoreszenzmikroskopischen Auswertung.

4. ERGEBNISSE

4.1 Tabellarische Auflistung der Daten sowie der Ergebnisse der fluoreszenzmikroskopischen Beurteilung

Die Ergebnisse werden gruppenweise in Tabellen aufgeführt.
Die fluoreszenzmikroskopische Beurteilung ergab folgende Resultate:

Gruppe C: 8 Tiere; Anschrauben einer Osteosyntheseplatte an die Tibia (ohne Fraktur) und lokale Beimpfung mit Staphylokokken

Allgemeines:

Tiernummer	51	52	53	54	55	56	57	58
Gewicht/kg	3,0	3,1	1,9	2,0	4,0	3,3	3,3	3,3
Geschlecht	w	m	m	m	m	w	m	w
Lebensdauer (Tage p. op.)	57	42	64	64	39	62	62	62
Fraktur	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Osteosynthese-material	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL
Refraktur	∅	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Staphylokokken	+	+	+	+	+	+	+	+
Stabilität	+	∅	+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung:

PL: Osteosyntheseplatte
-: entfällt
m: männlich
w: weiblich

Fluoreszenzmikroskopie

Tiernummer		51	52	53	54	55	56	57	58
Frakturspalt	offen	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
	durchbaut	ϕ	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Callus		ϕ	++	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Sequester		+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Gefäßzeichnung		++	ϕ	++	++	+	++	+	+
corticaler Umbau		+	++	+	+	ϕ	++	+	+
Resorptionen		ϕ	+	ϕ	+	ϕ	ϕ	+	+
Schraubenkanäle		ϕ	ϕ	o	3qu	3qu	o	3qu	3qu
Farben	blau	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
	orange	+	++	+	+	ϕ	+	+	++
	gelb	++	+++	+	+	+	+	+	+
	rot	(+)	(+)	(+)	(+)	ϕ	(+)	(+)	(+)
Primärheilung	Kontakthlg.	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
	Spaltheilg.	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
sek. Remodeling		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
"plugging"		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Sekundärheilung		ϕ	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Vergrößerung				6,3 x 12,5		80fach			

Zeichenerklärung:

qu: quergetroffene Schraubenlöcher

(+): sehr gering, nur in Spuren vorhanden

Gruppe D: 11 Tiere; Stabilisierung einer Tibiaquerfraktur mit Hilfe der Druckplattenosteosynthese

Allgemeines

Tiernummer	59	61	62	63	64	67	68	69	71	72	73
Gewicht/kg	2,5	2,5	2,0	2,0	2,5	2,4	3,6	5,2	2,8	3,0	2,2
Geschlecht	m	w	m	w	w	m	w	w	m	w	w
Lebensdauer (Tage p. op.)	89	123	96	308	28	332	31	84	79	25	74
Fraktur	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Osteosynthesematerial	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL
Refraktur	∅	∅	∅	∅	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Staphylokokken	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Stabilität	+	+	+	+	∅	+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung:

PL: Osteosyntheseplatte

m: männlich

w: weiblich

Fluoreszenzmikroskopie

Tiernummer	51	61	62	63	64	67	68	69	71	72	73
Frakturspalt offen	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	+	+	ϕ	ϕ	ϕ	-	ϕ
Frakturspalt durchbaut	+	+	+	+	ϕ	ϕ	+	+	+	-	+
Callus	ϕ	+	+	++	++	++	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Sequester	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	++	+	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Gefäßzeichng.	+	+	+	+	(+)	ϕ	+	+	+	+	+
corticaler Umbau	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+
Resorptionen	ϕ	+	+	+	++	+	ϕ	ϕ	+	ϕ	+
Schraubenkanäle	ϕ	3qu	ϕ	3qu	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Farben blau	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Farben orange	+	+	+	+	+++	+	++	+	+	+	+
Farben gelb	+	+	++	++	++	+	++	+	++	++	++
Farben rot	+	ϕ	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	+	+	(+)
Primärheilung Kontakthlg.	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Primärheilung Spaltheilg.	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	+	+	+	+	+
sek. Remodeling	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
"plugging"	ϕ	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Sekundärheilung	ϕ	+	+	+	PS	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Vergrößerg.				6,3 x 12,5			80fach				

Zeichenerklärung:

(+): sehr gering, nur in Spuren vorhanden

qu: Quergetroffene Schraubenlöcher

PS: Pseudarthrose

-: nicht untersucht, bzw. entfällt

Gruppe E: 4 Tiere; Fixierung einer Tibiaquerfraktur mit einem Marknagel (V4A-Stahldraht)

Allgemeines

Tiernummer	78	79	80	81
Gewicht/kg	1,5	2,7	2,5	2,5
Geschlecht	m	m	m	w
Lebensdauer (Tage p. op.)	85	79	78	72
Fraktur	+	+	+	+
Osteosynthese-material	MN	MN	MN	MN
Refraktur	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Staphylokokken	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Stabilität	ϕ	+	ϕ	ϕ

Zeichenerklärung:

MN: Marknagel

m: männlich

w: weiblich

Fluoreszenzmikroskopie

Tiernummer		78	79	80	81
Frakturspalt	offen	+	ϕ	ϕ	ϕ
	durchbaut	ϕ	+	+	+
Callus		+++	ϕ	++	++
Sequester		ϕ	ϕ	ϕ	+
Gefäßzeichnung		+	+	ϕ	+
corticaler Umbau		+	+	+	+
Resorptionen		++	ϕ	+	+
Schraubenkanäle		-	-	-	-
Farben	blau	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
	orange	+	+	+	+
	gelb	+	+	+	++
	rot	++	+	++	+
Primärheilung	Kontakthlg.	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
	Spaltheilg.	ϕ	+	ϕ	ϕ
sek. Remodeling		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
"plugging"		ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Sekundärheilung		PS	ϕ	+	+
Vergrößerung		63 x 12,5		80fach	

Zeichenerklärung:

PS: Pseudarthrose

-: entfällt

Gruppe F: 13 Tiere; Versorgung der Tibiaquerfraktur mit Druckplatten-osteosynthese und lokale Beimpfung mit Staphylokokken

Allgemeines

Tiernummer	82	83	84	85	86	87	88	89	90	92	93	95	96
Gewicht/kg	2,3	2,4	2,0	2,2	2,8	2,0	2,2	1,9	3,0	2,7	2,8	2,5	3,6
Geschlecht	m	m	w	w	w	w	m	m	m	m	m	m	w
Lebensdauer (Tage p. op.)	33	250	236	236	236	33	90	90	95	94	96	96	93
Fraktur	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Osteosynthese-material	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL	PL
Refraktur	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	+
Staphylokokken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Stabilität	ϕ	+	+	+	+	ϕ	+	ϕ	ϕ	+	ϕ	+	ϕ

Zeichenerklärung:

PL: Plattenosteosynthese

m: männlich

w: weiblich

Fluoreszenzmikroskopie

Tiernummer	82	83	84	85	86	87	88	89	90	92	92	95	96
Frakturspalt offen	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	+	ϕ	ϕ	+	ϕ	+	ϕ	+
Frakturspalt durchbaut	+	+	+	ϕ	ϕ	ϕ	+	+	ϕ	+	ϕ	+	ϕ
Callus	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	++	ϕ	+	+	ϕ	++	ϕ	+
Sequester	ϕ	ϕ	ϕ	+	+	+	ϕ	ϕ	+	ϕ	+	ϕ	+
corticaler Umbau	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	ϕ	+	+
Resorptionen	ϕ	+	ϕ	+	ϕ	+	+	ϕ	+	ϕ	+	ϕ	+
Schraubenkanäle	ϕ	ϕ	ϕ	21	31	ϕ	ϕ	3qu	ϕ	2qu	3qu	ϕ	1,5 qu
Farben blau	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Farben orange	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	ϕ	+	+
Farben gelb	+	+	++	++	+	++	++	++	++	+	ϕ	++	++
Farben rot	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	ϕ	(+)	(+)
Primärheilung Kontakthlg.	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Primärheilung Spaltheilg.	ϕ	+	+	+	+	ϕ	+	ϕ	ϕ	+	ϕ	+	ϕ
sek. Remodeling	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
"plugging"	ϕ	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ
Sekundärheilung	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	+	ϕ	+	PS	ϕ	PS	ϕ	PS
Vergrößerung				6,3 x 12,5				80fach					

Zeichenerklärung:

(+): sehr gering, nur in Spuren vorhanden
l: längs getroffene Schraubenlöcher
qu: quergetroffene Schraubenlöcher
PS: Pseudarthrose

Allgemeine Zeichenerklärung:

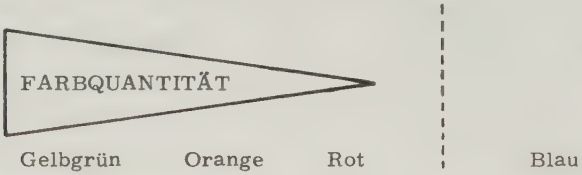
ϕ: fehlt bzw. nicht vorhanden
+: vorhanden
++: stark vorhanden
+++: sehr stark vorhanden

(übrige vorkommende Zeichen sind gesondert erklärt)

4.2 Allgemeine Besprechung der Ergebnisse aus der Fluoreszenzmikroskopie

4.2.1 Anfärbung der Präparate

Die Farben waren bei der Fluoreszenzmikroskopie durchwegs gut zu sehen. Allerdings war die Farbe Blau in keinem der Präparate nachzuweisen. Der Grund hierfür soll in der Diskussion besprochen werden. Die Farbe, die bei der Mehrzahl der Präparate am ausgeprägtesten war, ist das Gelbgrün des Calzeins. Ob dies darauf zurückzuführen ist, daß die Umbauvorgänge gerade in den Tagen, in denen Calzein appliziert wurde, besonders intensiv waren, erscheint diskussionswürdig. Orange war weniger häufig als Gelbgrün, aber häufiger als Rot, so daß sich folgende Verteilung ergibt:



Abweichungen von dieser Verteilung kamen vereinzelt vor und werden gesondert besprochen.

Zuerst sollen allgemein die einzelnen histologischen Erscheinungen, die bei der Frakturheilung auftreten, aufgeführt werden, wie sie sich im Flureszenzmikroskop darstellten.

4.2.2 Callus

Die Callusbildung war zum größten Teil appositionell. Eine endostale Callusbildung war selten nachzuweisen und wenn, dann sehr gering. Die Form der Callusbrücke war meist spindelförmig ein- oder beidseitig. Das Ausmaß der Callusbildung läßt einen Zusammenhang mit dem Grad der Stabilität vermuten. Je instabiler eine Fraktur war, um so ausgeprägter war die Callusformation. Die Knochenstruktur

im Callus, erkennbar an der Fluorochromeinlagerung, war unregelmäßig. Am wirrsten war sie in der direkten Frakturumgebung, etwas ruhiger in den frakturfernen Zonen. Eine regelhafte Orientierung war aber noch nicht zu erkennen. Vereinzelt waren zapfenförmige Ausläufer des Callus in die Corticalis nachzuweisen. Offensichtlich dienen sie der festen Verankerung der Callusbrücke an den Fragmentenden (33).

Vereinzelt sah man, daß sich der Callus ein Stück in den Bruchspalt fortsetzte (Tier Nr. 61). Bindegewebige Anteile des Callus konnte man nur bei den Pseudarthrosen finden (Tiere Nr. 64, 78 u. a.). Sonst war der Callus mit den drei sichtbaren Fluorochromen lebhaft gefärbt. Bei den Tieren Nr. 61 und 64 herrschte im Callus das Orange des Xylenoloranges vor. Bei den übrigen Tieren waren alle Farben, außer Blau, vertreten.

4.2.3 Resorptionsvorgänge

Osteolytische Prozesse, besonders im Corticalisbereich, führten mehrfach zur Entstehung von Sequestern (Präp. Nr. 51, 64, 67, 68, 81, 85). Diese abgestorbenen Knochenbröckel waren sehr gut an ihrer Farbfreiheit zu erkennen. Den Zeitpunkt des Auslösens von Sequestern zu bestimmen, war daher nicht möglich. Die betroffenen Teile müssen jedoch sehr früh von der Blutversorgung abgeschnitten gewesen sein, so daß es zu einem sofortigen Stoffwechselstillstand kam. Die Mehrzahl der Sequester lag in der Markhöhle.

Daß der Frakturspalt in toto in einem Sequester herausgelöst war, wurde einmal beobachtet (Präp. Nr. 81). Dabei war der eigentliche Bruchspalt im Sequester noch klar erkennbar, während die Außenseiten durch die osteoklastischen Vorgänge angegriffen waren.

Resorptionsprozesse nahmen ihren Ausgang von endostal, periostal, vom Frakturspalt und von den Schraubenkanälen her. Halbkugelförmige Osteolysen wurden besonders im Frakturspalt oder in quergetrof-

fenen Schraubenkanälen gefunden (Nr. 57, 58, 83). In 2 Fällen (Nr. 83, 88) wurde eine besondere Resorptionsform "Goccia di cera" (ROSANEDA F., LORENZI G. L.: Moderni orientamenti nelle osteosintesi delle frutture diafisarie. 54. Congr. SIOT, Roma (1969), zitiert nach RITTMANN, PERREN (33)) angetroffen. Darunter versteht man einen durch Resorption hervorgerufenen tropfenförmigen Defekt, der sekundär mit lamellärem Knochen aufgefüllt wird.

In einzelnen Resorptionskavernen der Corticalis konnte man ein tuschegefülltes Gefäßnetz sehen (Präp. Nr. 88). Im übrigen mußte auf eine Auswertung der Präparate im Hinblick auf die Gefäßzeichnung verzichtet werden. Bei den meisten Präparaten war die Gelatine-Tusche-Mischung durch den Herstellungsvorgang, d. h. durch die Verwendung von Wasser beim Sägen und Schleifen, herausgelöst worden.

4.2.4 Umbauvorgänge im Cortexbereich

Die corticalen Umbauvorgänge waren in Frakturnähe am stärksten und nahmen nach beiden Seiten hin kontinuierlich ab. Starke Umbautätigkeit in frakturfernen Gebieten war durch Schrauben hervorgerufen, in deren Umgebung teils eine besonders lebhafte Umorientierung der Osteone mit intensiver Färbung, teils eine besonders schwache Färbung, die fast an eine Nekrose erinnerte, vorkam. Im Bereich der Frakturstelle war immer eine Erweiterung der Havers'schen Kanäle im Sinne einer "Spongiosierung der Corticalis" (1) zu beobachten. Osteoklasten und mesenchymale Zellelemente waren hier fluoreszenzmikroskopisch natürlich nicht nachzuweisen. Die Spongiosierung war in unmittelbarer Frakturnähe am ungeordnetsten, während sie frakturferneren Zonen zu abnahm, und sich mehr lamellär anordnete.

Besonders auffallend waren schräge, die Corticalis durchziehende Bänder aus gutgefärbten längsgerichteten Osteonen, in sonst schwächer angefärbtem Knochengewebe (Nr. 62, 71, 73, 79, 84).

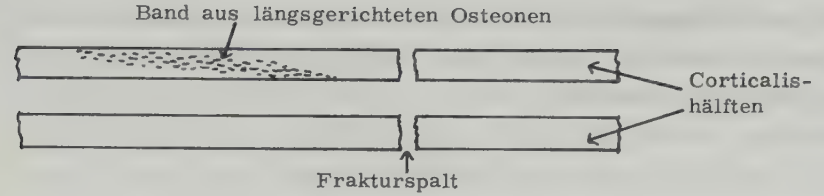


Abb. 3: Schemaskizze eines Bandes, das die Corticalis schräg durchzieht

Die Corticalisaußenseite zeigte häufig periostale, knöcherne Auflagerungen, meist in der Umgebung der angeschraubten Osteosyntheseplatte. Diese waren teils lamellär geschichtet, teils völlig ungeordnet. Besonders häufig und stark ausgeprägt waren die periostalen Auflagerungen bei den Gruppen, bei denen metallisches Implantat mit Keimen kombiniert war. Auffallend war bei 5 Präparaten (Nr. 62, 73, 78, 80, 82), daß hier das Rot des Alizarinkomplexons in den Vordergrund trat. Bei den Präparaten Nr. 62 und 73 war Rot vorherrschend in den frakturfernen Zonen, besonders in den schon beschriebenen, schräg verlaufenden Corticalisbändern. Bei den Tieren Nr. 78, 80 und 82 war Rot hauptsächlich im oder in unmittelbarer Nähe des Frakturspaltes zu finden.

Tier Nr. 78 hatte eine Pseudarthrose, die aber als Erklärung wahrscheinlich nicht in Frage kommt. Bei den Tieren Nr. 73 und 80 ist bekannt, daß während des Versuchs in der 9. Woche post operationem statt Xylenolorange, das ausgegangen war, Alizarinkomplexon injiziert wurde. Tier Nr. 82 kam am 33. Tag post operationem ad exitum und hatte daher in der Zeit des Mineralisationsbeginns, der nach SCHENK und WILLENEGGER (36) am Anfang der vierten Woche post operationem liegt, nur Alizarinkomplexon erhalten.

Ein Präparat (Nr. 86) zeigte einen auffallenden Unterschied in der Anfärbung der beiden Corticalishälften. Die eine Hälfte erschien fast ungefärbt,

während die gegenüberliegende Hälfte eine lebhafte Färbung aufwies. Dieses Präparat war eines der beiden, bei denen die Schraubenlöcher längs getroffen waren, d. h. man konnte die Stelle einer Corticalis einsehen, auf der die Osteosyntheseplatte aufgeschraubt war. Dies ist wohl als eine Plattenlagernekrose zu deuten. In der Gegencorticalis findet daher ein kompensatorischer Umbau statt, der die alte Stabilität herstellen soll. Bei einer Schnittebene, die die Schraubenkanäle quer getroffen zeigt, ist es nicht möglich, zu einer solchen Aussage zu kommen.

4.2.5 Heilungsvorgänge im Frakturspalt

Die Überbrückung des Frakturspaltes war unterschiedlich weit vorangekommen, je nach Überlebenszeit der Tiere nach der Operation. Diese Überlebenszeit umfaßte eine Spanne von minimal 25 bis maximal 332 Tagen. Die überwiegende Mehrzahl der Tiere wurde aber zwischen der 9. und 13. Woche post operationem getötet. Es wurden Primärheilungen, Sekundärheilungen und Pseudarthrosen beobachtet.

Die Primärheilungen verliefen immer als Spaltheilungen, wobei der Frakturspalt mit lamellärem Knochen aufgefüllt wurde. Die Osteone im Spalt waren dabei meist quer zur Knochenlängsachse gerichtet. Bei Tieren mit längerem Heilungsverlauf wurden auch Osteone gesehen, die sich schon in Längsrichtung umgeordnet hatten. Sekundäres "Remodeling" (33), wobei ein Osteon von einer Fragmentcorticalis über den ausgefüllten Spalt hinweg in die andere Corticalis hineinwächst, trat einmal auf (Tier Nr. 82). "Plugging" (33) wurde 2 mal festgestellt (Nr. 61, 83). Dabei handelt es sich um ein Osteon, das vom lamellären Knochen im Spalt in eine Corticalis vordringt. Ein direkt den Frakturspalt überbrückendes Osteon kam niemals vor. Darum konnte bei keinem Präparat von einer echten Kontaktheilung gesprochen werden.

Bei den Tieren mit höherer Lebensdauer konnte zwischen Kontakt-

oder Spaltheilung nicht unterschieden werden, da der Bruchspalt meist vollkommen durchbaut war. Wenn dieser Ort noch erkennbar war, dann nur an der etwas unruhigeren Struktur des Knochens an dieser bestimmten Stelle.

Die Sekundärheilungen gingen mit der Ausbildung einer mehr oder minder starken Callusmanschette einher, die später zu Lamellenknochen umgebaut wurde. Im Frakturspalt fanden sich osteoklastische Vorgänge und jede Art von intermediärem Stützgewebe, sei es Bindegewebe, Faserknorpel oder Faserknochen.

Die pseudarthrotischen Heilungen zeigten eine konsolenartige Auftreibung der Fragmentenden. Diese waren fast ohne jede Farbeinlagerungen und damit ohne nennenswerte Calcifikation. Appositionell und interfragmentär überbrückten und stabilisierten bindegewebige Züge den Frakturspalt.

Anschließend werden die histologischen Ergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen wiedergegeben.

4.3 Besprechung der histologischen Besonderheiten der einzelnen Gruppen

4.3.1 Gruppe C

8 Kaninchen wurden operiert. An die nichtfrakturierte Tibia wurde eine metallische Osteosyntheseplatte angeschraubt. Das Operationsgebiet wurde mit 10^5 Keimen des Staphylokokkenstammes SG 511 in 0,1 ml physiologischer NaCl-Lösung beimpft. Bei dieser Gruppe sollten die Auswirkungen von Platte und Infektion an der nichtfrakturierten Tibia studiert werden.

Fluoreszenzoptisch ergab sich folgendes:
Ein mit massiver Callusbildung überbrückter Frakturspalt war bei Tier Nr. 52 zu sehen. Dieses Tier hatte am 7. Tage post operationem eine Fraktur erlitten. Eine Corticalis zeigte kaum Farbeinlage-

rungen, ein Zeichen destruktiver Veränderungen. Die gegenüberliegende Corticalis war stark gefärbt und zeigte in Frakturspaltnähe eine regellose Umbautätigkeit der Osteone.

Die Färbung des Präparats (besonders gelb und orange) war bei keinem Präparat der Gruppe C so ausgeprägt wie hier.

Bei Tier Nr. 55 waren beide Corticalishälften bis auf geringe Gelbeinlagerungen fast ungefärbt, was auf eine fehlende Reaktion der Knochen auf Trauma und Infektion hindeutet. Dieses Tier starb am 39. Tag post operationem ohne erkennbare Todesursache.

Bei den anderen Tieren war die Corticalis durchweg mit lamellären Farbbändern durchzogen. Alle Tiere zeigten mehr oder weniger starke gut gefärbte periostale knöcherne Auflagerungen.

Bei den Präparaten Nr. 57 und 58 sah man um die quergetroffenen Schraubenlöcher nekrotische Bezirke mit halbkugelförmigen Arrosionen, während daneben gut gefärbte Bezirke reaktiver Knochenneubildung zu erkennen waren.

Die Gefäßzeichnung war, soweit beurteilbar, gut bis auf den Frakturbezirk Nr. 52 und in der näheren Umgebung von quergetroffenen Schraubenlöchern.

4.3.2 Gruppe D

Diese Gruppe bestand aus 11 Tieren. Eine Tibiaquerfraktur wurde mit einer metallischen Osteosynthesedruckplatte stabilisiert. Eine Beimpfung mit Keimen erfolgte nicht. Diese Gruppe sollte die Kontrollgruppe zur Gruppe F (Fraktur mit Druckplattenosteosynthese und Impfung mit Keimen) darstellen.

Im postoperativen Verlauf starben 4 Tiere.

Nr. 59 kam am 89. Tag post operationem ad exitum ohne erkennbare Todesursache. Histologisch ergab sich, daß die Fraktur primär geheilt war.

Tier Nr. 67 starb am 332. Tag post operationem. Histologisch konnte man dislozierte Frakturenden, die teils nekrotisch waren, sehen. Der Bruchspalt, der mit Sequestern ausgefüllt war, war mit teils bindegewebigem, teils schon calzifiziertem Callus überbrückt.

Tier Nr. 68 kam am 31. Tage post operationem ohne erkennbare Ursache ad exitum. Histologisch ergab sich eine callusfreie Primärheilung.

Tier Nr. 72 starb am 25. Tage post operationem. Die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung ergab eine beginnende Primärheilung mit spindelförmiger Auftreibung des Knochens. Lichtmikroskopisch und röntgenologisch war eine Infektion festgestellt worden (12).

Fluoreszenzmikroskopisch ergab sich im einzelnen:
Primäre Frakturheilungen zeigten sich bei 6 Tieren und zwar bei den Tieren Nr. 59, 68, 69, 71, 72, 73.
Sekundär heilten die Frakturen bei den Tieren Nr. 61, 62, 63 und 67. Das Tier Nr. 64 wies eine Pseudarthrose auf. Die Frakturenden waren völlig ungefärbt und zeigten massive bindegewebige Auflagerungen. In der Markhöhle und in den beiden Corticalishälften lagen mehrere Sequester.

"Plugging" (32) wurde einmal beobachtet und zwar bei Tier Nr. 61.

4.3.3 Gruppe E

Bei den 4 Tieren dieser Gruppe wurde eine Tibiaquerfraktur mit einem Marknagel (V 4 A-Stahldraht) fixiert. Hier sollte die Heilung einer instabil versorgten Fraktur studiert werden. Eine Keimbeimpfung erfolgte nicht.

Im postoperativen Verlauf starb keines dieser Tiere. Bis auf Tier Nr. 79 waren die Marknagelosteosynthesen instabil. Dieses Tier zeigte am Frakturspalt auch keinen Callus, der bei den anderen Tieren mehr oder minder stark ausgeprägt war. Die Fraktur heilte hier primär. Bei den Tieren Nr. 80 und Nr. 81 erfolgte eine Sekundärheilung;

Tier Nr. 78 wies eine Pseudarthrose auf. Im Frakturbereich von Tier Nr. 81 lag ein Sequester, der vom Bruchspalt durchzogen war.

4.3.4 Gruppe F

Bei den 13 Tieren dieser Versuchsgruppe war eine Tibiaquerfraktur mit einer 8-Loch-Doppelplatte stabil versorgt worden. Es erfolgte eine lokale Keimbeimpfung mit Staphylokokken (10^5 Keime SG 511 in 0,1 ml physiologischer NaCl-Lösung).

2 Tiere dieser Gruppe Nr. 82 und 87 starben am 33. Tage post operationem. Beide Tiere wiesen lichtmikroskopisch eine abszedierende Osteitis auf (12). Bei 6 Tieren war die Osteosynthese instabil (Nr. 82, 87, 89, 90, 93, 96). Von diesen Tieren kam es bei Nr. 82 und 96 zu einer Refraktur während des Verlaufs nach der Operation.

Mehr oder weniger starke Callusbildung sah man histologisch bei 5 Tieren (Nr. 82, 87, 90, 93, 96). Die Frakturheilung verlief bei 8 Tieren primär im Sinne einer Spaltheilung (Nr. 83, 84, 85, 86, 88, 89, 92, 95). Sekundärheilung war bei 2 Tieren zu beobachten (Nr. 82 und 87). Bei den restlichen Tieren entwickelte sich eine Pseudarthrose (Nr. 90, 93, 96).

5. ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE

5.1 Allgemeines

Insgesamt wurden 36 Tiere untersucht. Pro Knochenhalbzylinder wurden jeweils 3 - 4 Schnitte angefertigt. Dies läßt eine Aussage über die Situation im Frakturgebiet zu. Die 36 Tiere gliedern sich in vier Gruppen, C, D, E, F, die aus einem größeren Gut von Versuchstieren herausgegriffen wurden, um sie fluoreszenzmikroskopisch auszuwerten. Lichtmikroskopische Ergebnisse liegen von diesen Tieren bereits vor (12).

Die Gruppen teilen sich wie folgt auf:

Gruppe C: Bestehend aus 8 Tieren; keine Tibiaquerfraktur. Anschrauben einer Osteosyntheseplatte an die Tibia. Zusätzlich wurde eine Keimbeimpfung mit Staphylokokken durchgeführt.

Gruppe D: Bestehend aus 11 Tieren; Tibiaquerfraktur, Versorgung der Fraktur mittels einer Druckplattenosteosynthese.

Gruppe E: Bestehend aus 4 Tieren; Tibiaquerfraktur, Fixierung mit Marknagel (V4-A-Stahldraht).

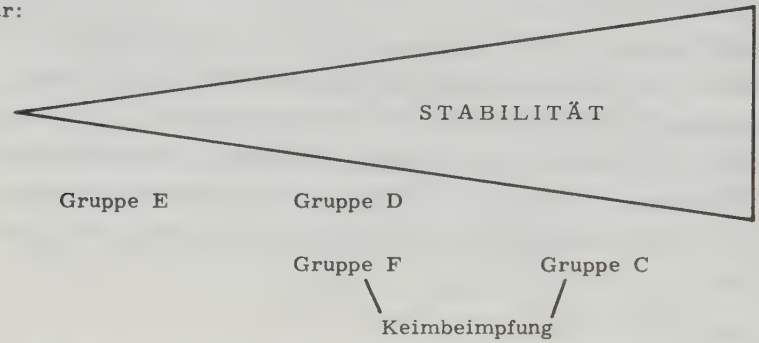
Gruppe F: Bestehend aus 13 Tieren; Tibiaquerfraktur; Druckplattenosteosynthese; Keimbeimpfung.

In diesen Gruppen sollten Osteosynthesearten verschiedener Stabilität erprobt werden. Dies ist grundsätzlich nichts Neues und wurde schon von mehreren Autoren beschrieben (1, 2, 11, 36, 47 u.a.).

Hierbei wurden aber bei den Gruppen C und F zusätzlich sofort post operationem lokal Keime in den Frakturspalt eingebracht, und zwar Staphylokokkus aureus des Stammes SG 511 in 0,1 ml physiologischer NaCl-Lösung. Bei diesen Versuchsgruppen sollte studiert werden, inwieweit eine lokale Keimbeimpfung unter stabilen Verhältnissen Auswirkungen auf die Knochenheilung hat. Diese Fragestellung

wurde bislang noch kaum bearbeitet (12, 33).

Dem Stabilitätsgrad nach geordnet stellen sich die Gruppen wie folgt dar:



Da sich im postoperativen Verlauf aus den Versuchsgruppen, die mit Staphylokokken infiziert waren, einige Osteosynthesen als instabil erwiesen (Nr. 52, 82, 87, 89, 90, 93, 96), war die Möglichkeit gegeben, zu erfahren, was die Anwesenheit pathogener Keime für die Frakturheilung unter instabilen Bedingungen bedeutet. Die begrenzte Zahl der Versuchstiere und das teilweise Fehlen von Kontrollgruppen lassen natürlich keine endgültigen Schlüsse und keine statistische Auswertung zu. Es wurde daher das Hauptaugenmerk auf das histologische Bild, wie es sich in der Fluoreszenzmikroskopie darstellt, gerichtet. Dabei wurde in erster Linie auf die Färbung, Verteilung der Farben, Umbauvorgänge in der Corticalis und im Markraum des Knochens geachtet.

5.2 Fluorochrom-Markierung

Die intravitale Fluoreszenzmarkierung erfolgte mit Calzeinblau (1 ml/kg), Xylenolorange (3 ml/kg), Calzein (0,66 ml/kg) und Alizarinkomplexon (1 ml/kg). Die Dosierungen waren vom Hersteller angegeben. Diese Farben eignen sich gut für eine intravitale Markierung des Stoffwechselknochens. Ihr Ablagerungsort ist identisch mit dem der Tetrazykline, die aber ihrer antibiotischen Wirksamkeit wegen

nicht zur Anwendung kommen konnten (5, 26, 27, 28, 29).

Begonnen wurde mit der Markierung 48 Stunden vor dem operativen Eingriff mit der 1. Substanz. Die weitere Applikation erfolgte dann in wöchentlichem Abstand mit den weiteren Farben. Die Fluorochrome wurden dann in 4-wöchigem Turnus wiederkehrend bis zum Tode der Versuchstiere verabfolgt. Leider erlaubt diese Art der Sequenzmarkierung nicht, den zeitlichen Einbau einer Farbe mit letzter Sicherheit zu bestimmen, da sie ja mehrmals appliziert wurde.

Die Farben waren gut zu sehen und stellten sich mit abnehmendem Intensitätsgrad wie folgt dar: Gelbgrün (Calzein), Orange (Xylenolorange), Rot (Alizarinkomplexon). Das Blau des Calzeinblaus war in keinem der Präparate nachzuweisen. Da die Halbwertzeit des Calzeinblaus deutlich kürzer ist als die der übrigen Fluorochrome (28), hatte möglicherweise dessen Intensität schon so stark nachgelassen, daß es nicht mehr zu beobachten war. Xylenolorange hat ungebunden eine sehr kurze Verweildauer im Organismus. RAHN und PERREN (29) zeigten, daß sich bei Versuchstieren der Urin 0,5 h nach der Injektion dunkelrot verfärbte und daß die generalisierte Violettfärbung der durchbluteten Gewebe innerhalb von 2 h zurückging. Die gleichen Autoren stellten fest, daß die Intensität der Fluoreszenz bei Einbettung in monomerem Methylmethacrylat schwand. Dieser Effekt trat bei Xylenolorange und Alizarinkomplexon auf (27, 28). Das könnte erklären, warum diese Farben hier etwas schwächer zu sehen waren. Der geringe Intensitätsschwund bei längerer Bestrahldauer mit UV-Licht oder Blaulicht fällt nicht ins Gewicht.

5.3 Zeitliche Einordnung der Heilungsverläufe

Unter Berücksichtigung des bisher Gesagten läßt sich eine annähernde Bestimmung des Maximums der Heilungsvorgänge treffen. RITTMANN und PERREN (33) geben das Maximum des "Remodeling" in der 5.-6. Woche an. SCHENK und WILLENEGGER (36) haben gefun-

den, daß der Mineralisationsbeginn der regenerierenden Osteone in der 3. Woche post operationem anzusetzen ist. Nach 8 Wochen sollen 63 % aller Havers'schen Systeme umgebaut sein, wobei der größte Umbauzuwachs in den Zeitraum von der 4. bis 6. Woche fällt.

Legt man dies zugrunde, ergibt sich folgendes:

Woche post operationem	appliziertes Fluorochrom	Farbintensität	
I.	X	++	
II.	C	+++	Einsetzen der Mineralisation (36)
III.	A	+	
IV.	CB	-	
V.	X	++	
VI.	C	+++	Maximum der Mineralisation
VII.	A	+	
VIII.	CB	-	

X = Xylenolorange

C = Calzein

A = Alizarinkomplexon

CB = Calzeinblau

Aus der Tabelle folgt also, daß das Maximum der Umbautätigkeit bei den angegebenen Versuchsgruppen wahrscheinlich ebenfalls in der 5. bis 6. Woche post operationem erreicht wurde.

Die ebenfalls starke Farbintensität des Calzeins in der zweiten Woche könnte mit der postoperativen Hyperämie und der damit verbundenen Mehrablagerung von Fluorochrom erklärt werden. L. D. DAMBE und A. van de BERG (8) geben die höchste Gefäßaktivität zwischen dem 7. und 40. Tag post operationem an.

5.4 Histologie

Umbauvorgänge waren in allen Präparaten zu sehen. Am stärksten waren sie frakturnah, etwas schwächer frakturfern. Die Havers'schen

Kanäle waren im direkten Frakturbereich im Sinne einer "Spongiosierung der Corticalis" aufgeweitet. Nach ALLGÖWER (1) stellt das den Beginn dar, die durch das Trauma der Fraktur devitalisierten Zonen unmittelbar um den Frakturspalt abzubauen.

Besonders auffallend waren die schon beschriebenen Bänder, die aus stark gefärbten Osteonen bestehend die Corticalis durchzogen. RITTMANN und PERREN (33) beobachteten bei ihren Präparaten das gleiche, ohne dafür eine Erklärung zu geben.

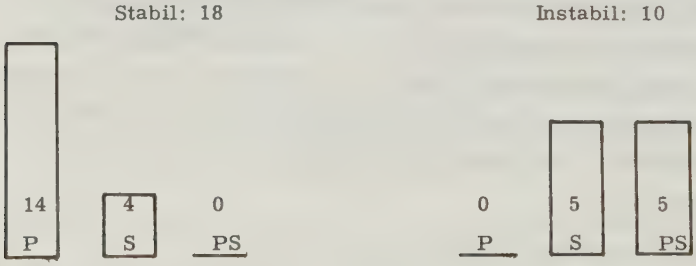
Wahrscheinlich herrschen nach einer Osteotomie etwas andere Stabilitätsverhältnisse im Knochenschaft, da eine ideale Reposition der Fragmentenden bis in den mikroskopischen Bereich kaum je gelingt. Nach SCHENK und WILLENEGGER (36) hat der Lamellenknochen einen "ausgesprochen trajektoriellen Aufbau". Bei veränderter Belastung verschieben sich natürlich auch die Verläufe der Trajektorienlinien, was einen vermehrten Einbau von Mineralsalzen in den Osteonen, die in der neuen Belastungslinie liegen, hervorruft. Die Zeit für diese trajektorielle Umorientierung der Osteone ist ungefähr in der 3. Woche post operationem anzusetzen (36). Bei mehreren Präparaten war in diesem schräg verlaufenden Bändern vermehrt das Rot des Alizarinkomplexons nachzuweisen, was in der 3. Woche post operationem appliziert worden war. Der Regelmechanismus für diesen Umbau ist noch unbekannt.

Die periostalen Knochenauflagerungen, die häufig zu sehen waren, stellen nach KÜNTSCHER (22) eine Antwort des Knochens auf den Entzündungsreiz dar. Dieser Entzündungsreiz kann mechanisch, chemisch oder thermisch bedingt sein. KÜNTSCHER (22) hat durch chemische Reize eine erhebliche Verstärkung von Knochen beim Menschen herbeiführen können. Bei den vorliegenden Untersuchungen waren diese reaktiven Knochenneubildungen in besonderem Maße dann zu sehen, wenn eine mit Druckplatten versorgte Fraktur mit Keimen beimpft worden war.

RITTMANN und PERREN (33) sahen bei ihren Versuchen häufig, daß der Osteotomiespalt als Ganzes in einem Sequesterblock herausgelöst wurde. Bei den vorliegenden Präparaten konnte dies nur einmal beobachtet werden. Die Gründe hierfür sind unklar. Zu erwägen wäre vielleicht, daß die Sägeosteotomie mit der oszillierenden Säge ein größeres Trauma verursacht als eine gewöhnliche Fraktur. Die damit verbundene Hitzeentstehung thrombosiert die Gefäße vermutlich sehr viel ausgedehnter, so daß dann der stoffwechselinaktivere Bezirk als Block herausgelöst wird.

5.5 Frakturheilung

Von den 28 Osteosynthesen waren 18 stabil, 10 instabil. Von den 18 stabilen heilten 14 primär im Sinne einer Spaltheilung, bei den restlichen 4 waren sekundäre Heilungen mit Callusbildungen zu beobachten. Von den 10 Tieren, die Instabilität aufwiesen, kamen 5 zu einer sekundären Heilung, 5 bildeten eine Pseudarthrose aus.



P = Primärheilung, S = Sekundärheilung, PS = Pseudarthrose

Abb. 4: Verteilung der Heilungstypen

Diese Graphik zeigt deutlich, daß der Stabilität der Fragmentenden zueinander für die Heilung ein entscheidender Faktor zukommt. Unter stabilen Verhältnissen ist die Zahl der primären Heilungen signifikant größer. Dies ist auch in der Literatur immer wieder bestätigt (1, 22, 33, 36, 47). FRIEDRICH (12) hat bei lichtmikroskopischer

Auswertung verschiedentlich Kontaktheilungen gefunden. Sie konnten fluoreszenzmikroskopisch in keinem Fall nachgewiesen werden. Es ist bekannt, daß Kontakt- und Spaltheilungen an der gleichen Fraktur vorkommen können (36).

Bei der Druckplattenosteosynthese kann es im Frakturspalt gegenüber der Druckplatte wegen der dabei auftretenden Drehmomente zu einer Spaltbildung kommen. Dieser Spalt wird dann bei entsprechender Ruhe zwischen den Fragmentenden sofort mit lamellären Knochen ausgefüllt, der quer zur Knochenlängsachse ausgerichtet ist. Erst später erfolgt dann eine Umordnung der quergerichteten in längsgerichtete Osteone (36).

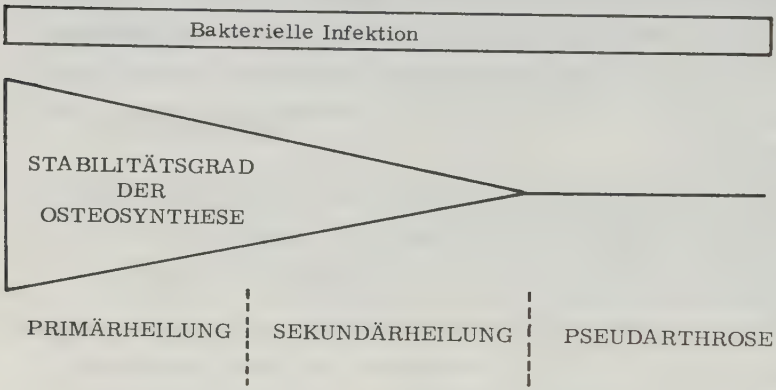
RITTMANN und PERREN (33) gingen dem aus dem Weg, indem sie eine schon vorgebogene Osteosyntheseplatte benutzten, die das unerwünschte Drehmoment auffing und eine Spaltbildung verhinderte.

Über die Revaskularisation des Frakturgebietes können keine Angaben gemacht werden, da die zur Markierung der Gefäße eingespritzte Gelatine-Tusche-Mischung häufig durch die histologische Verarbeitung herausgelöst wurde. RHINELANDER (31, 32) hat Versuche über die Revaskularisation im Frakturgebiet gemacht. Er fand, daß das medulläre Gefäßsystem bei der Einbringung eines Markraumnagels trotz Zerstörung sehr rasch regenerierte, aber nicht in der Lage war, bei instabilen Verhältnissen den Frakturspalt zu überbrücken.

5.6 Wechselwirkung Infektion - Frakturheilung

Im fluoreszenzmikroskopischen Bild ist eine Infektion kaum nachzuweisen. In Gruppe F (Osteosynthese mit Keimbeimpfung) konnte nicht beobachtet werden, daß die Infektion eine Beeinträchtigung der Heilung mit sich brachte, wenn stabile Verhältnisse vorlagen. Jedoch entwickelten von 6 Tieren mit instabilen Osteosynthesen 5 eine klinisch manifeste Osteitis (12). Dagegen heilten die 7 stabilen Frakturen alle primär.

Es ergibt sich also, daß es unter stabilen Bedingungen trotz Infektion zu einer ungestörten Primärheilung kommen kann, daß aber Instabilität einen idealen Nährboden für das Angehen einer Infektion darstellt (12). RITTMANN und PERREN kamen bei ihren Untersuchungen im wesentlichen zum gleichen Ergebnis (33).



6. SCHLUSSFOLGERUNG UND KLINISCHER AUSBLICK

Eine primäre Heilung ist bei jeder Osteosynthese anzustreben, da sie den Typ der schnellen und ungestörten Heilung darstellt.

Das Zusammentreffen von Fraktur und Infektion, stellt jedes für sich allein schon eine beträchtliche Alteration des Organismus dar.

Wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, kommt dabei in der Behandlung der stabilen operativen Versorgung der Fraktur die erste Bedeutung zu. Eine stabile Osteosynthese schafft die besten Voraussetzungen für eine primäre, d. h. schnelle Frakturheilung und wirksame Infektionsbekämpfung.

Eine antibiotische Abdeckung wird in der Klinik in der Regel unterstützend vorgenommen werden.

Die Folgen sind schnellere Mobilisierung des Patienten, verkürzte Krankenhausaufenthalte, damit Senkung der Gesundheitskosten und schnellere Wiedereingliederung des Patienten in die Gesellschaft.

7. ZUSAMMENFASSUNG

7.1 Die posttraumatische Osteitis ist gegenüber der hämatogenen Osteomyelitis in der letzten Zeit deutlich in den Vordergrund getreten. Der Grund dafür ist erstens die Zunahme offener und gedeckter Frakturen besonders bei Verkehrsunfällen. Zum zweiten wird eine steigende Anzahl von Frakturen nicht mehr konservativ sondern operativ versorgt. Bei beiden Vorgängen ist die Gefahr einer direkten Kontamination der Knochenwunde mit pathogenen Erregern gegeben, was zu einer mehr oder minder starken Beeinträchtigung der Frakturheilung führt.

7.2 Die histologischen Vorgänge bei der Frakturheilung unter aseptischen Verhältnissen sind, da sie Gegenstand zahlreicher Forschungsarbeiten waren, recht genau bekannt. Auch die Bedeutung biomechanischer Momente bei der primären und sekundären Knochenheilung ist hinreichend erkannt. Die Zahl der experimentellen Arbeiten über die Biomechanik bei bestehender Infektion und über ihre gegenseitige Wechselwirkung auf die Frakturheilung ist dagegen wesentlich geringer. Über die Histologie der Frakturheilung unter diesen Bedingungen ist daher noch wenig bekannt.
Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dieser Problematik.

7.3 Als Untersuchungsgut dienten vier Gruppen unterschiedlich behandelter Kaninchen.

Eine durch Biegeüberbeanspruchung herbeigeführte Tibiafraktur wurde entweder durch Marknagelosteosynthese oder durch Druckplattenosteosynthese operativ versorgt. Bei einer weiteren Gruppe, bei der ohne Fraktur eine Druckplatte an die Tibia geschraubt wurde, wurde eine lokale Keimbeimpfung mit Staphylokokkus aureus durchgeführt. Ebenso bei einer Gruppe, bei der eine Tibiafraktur mit Druckplattenosteosynthese versorgt worden war.

Postoperativ wurde eine Sequenzmarkierung mit Calzeinblau, Xylenol-

orange, Calzein und Alizarinkomplexon bei allen Gruppen durchgeführt.

Nach Tötung der Versuchstiere wurde das Knochenstück, das die Fraktur enthält, in Methyl-methacrylat eingebettet. Daraus wurden maschinell und in Handarbeit 40 µ dicke Präparate hergestellt und fluoreszenzmikroskopisch untersucht.

7.4 Zielsetzung war dabei die Beantwortung folgender Fragen:

- Wie stellen sich Heilungsvorgang, Heilungstyp und Heilungsdauer im vorliegenden Untersuchungsgut fluoreszenzmikroskopisch dar?
- Welche Einflüsse haben Stabilitätsverhältnisse und Infektion auf die Histologie der Frakturheilung?
- Bestehen Wechselwirkungen zwischen Graden unterschiedlicher Stabilität der Fraktur und dem Angehen einer Infektion?

7.5 Ergebnisse

7.5.1 Heilungsvorgänge wie Callusbildung, Resorptionsvorgänge, Sequesterbildung, endostale und periostale Knochenneubildung wurden anhand des Ortes und Grades ihrer verschiedenfarbigen Fluoreszenz bestimmt. Lokalisation und Intensität der Fluoreszenz waren abhängig von der Blutversorgung und vom Grad der Mineralisation der betreffenden Gewebe.

7.5.2 Drei Heilungstypen wurden beobachtet: Primärheilungen, Sekundärheilungen und Pseudarthrosen. Die Primärheilungen waren durchweg Spaltheilungen im Sinne einer Auffüllung des Frakturspaltes mit lamellärem Knochen ohne die Ausbildung bindegewebiger Vorstufen.

7.5.3 Bei der zeitlichen Einordnung der Mineralisationsvorgänge fielen Farbmaxima in der ersten und zweiten sowie in der fünften und sechsten Woche auf. Erstere deuten auf eine postoperative Hyperämie sowie auf die Änderung der statischen Verhältnisse nach der Fraktur und die Antwort des Knochens darauf hin.
Das zweite Farbmaximum signalisiert die stärkste Mineralisierung des neugebildeten Knochens und damit die Festigung der Fraktur.

Die verwendeten Fluorochrome erwiesen sich als tauglich zur Sequenzmarkierung der Knochenmineralisation.

7.5.4 Trotz bestehender Infektion kam es bei den stabilen Osteosynthesen zur Primärheilung. Bei den instabilen Osteosynthesen heilte die Fraktur sekundär oder pseudarthrotisch.
Eine durch Instabilität und Infektion zweifach bedrohte Fraktur kann also durch Ausschaltung des Faktors Instabilität trotzdem primär heilen.

7.5.5 Die Forderung für die Praxis lautet also:
Durchführung einer stabilen Osteosynthese, am besten in Form der Druckplattenosteosynthese, bei infizierten oder durch Infektion bedrohten Frakturen schafft die besten Voraussetzungen für eine störungsfreie schnelle Heilung, kurzen Klinikaufenthalt und schnelle Wiedereingliederung in die Gesellschaft.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. B. FRIEDRICH danke ich herzlich für die Überlassung des Themas sowie für die jederzeit freundliche und hilfreiche Unterstützung während der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. E. KERN danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Den Herren des Sonderforschungsbereiches "Biologie der Mundhöhle" der Universität Würzburg danke ich für die Überlassung der Geräte zum Anfertigen der mikroskopischen Präparate.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. W. ROMEN danke ich für die wertvollen Anleitungen bei der Arbeit am Fluoreszenzmikroskop.

8. LITERATURVERZEICHNIS

(1) ALLGÖWER, M., M. E. MÜLLER, R. SCHENK und H. WILLENEGGER
Biomechanische Prinzipien bei der Metallverwendung am Knochen. Langenbecks Arch. Klin. Chir. 305, 1 (1963)

(2) BERG, P. A. van de
Revaskularisation osteotomierter langer Röhrenknochen. Fortschr. Med. 89, 1358 (1971)

(3) BÖSENBERG, H.
Osteomyelitis-Erreger und Krankheitsbild. Hippokrates 12, 460 (1967)

(4) BUYSKE, D. A., H. J. EISNER and R. G. KELLY
Concentration and Persistence of Tetracycline and Chlortetracycline in Bone. J. Pharmacol. Exper. Ther. 130, 150 (1960)

(5) CAMERON, G. R.
The Staining of Calcium. Journ. of Path. 33, 929

(6) COHLAN, S. Q., G. BEVELANDER and S. BROSS
Effect of Tetracycline on Bone Growth in the Premature Infant. Antimicrob. Agents and Chemotherapie 340 (1961)

(7) COHLAN, S. Q., G. BEVELANDER and T. TIAMSIC
Growth Inhibition of Prematures Receiving Tetracycline. Amer. I. Dis. Childr. 105, 453 (1963)

(8) DAMBE, L. T. und A. van de BERG
Vaskularisation der Tibia im Experiment nach stabiler, extra- und intramedullärer Osteosynthese. Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum 31 (1972)

(9) EGER, W., F. GÖTZ und H. KÄMMERER
Herstellung von Dünnschliffen aus Knochen und Weichgewebe nach Markierung mit Tetrazyklinen. Langenbecks Arch. klin. Chir. 306, 205 (1964)

(10) EGER, W., H. KÄMMERER und G. FUCHS
Beiträge zum Verhalten von Knochentransplantaten, untersucht am Dünnschliff nach Tetrazyklinmarkierung. Langenbecks Arch. klin. Chir. 307, 338-354 (1964)

(11) EITEL, F. und L. T. DAMBE — Instabilität und Vaskularisation langer Röhrenknochen im Experiment. Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum, 27 (1972)

(12) FRIEDRICH, B. — Die Bedeutung der biomechanischen Stabilität in der Ätiologie der posttraumatischen Osteomyelitis. Habilitationsschrift Würzburg (1973)

(13) FROST, H. M., A. R. VILLNUEVA, H. ROTH and S. STANISAVLJEVIC — Tetracycline Bone Labeling. J. New Drugs 1, 206 (1961)

(14) GEISER, M. — Beiträge zur Biologie der Knochenbruchheilung. Beilageheft zu Bd. 97 der Z. f. Orthop. (1963)

(15) HELL, K. — Anwendung ausgewählter histochemischer Reaktionen zum Studium der Binde- und Stützgewebsdifferenzierung am unentkalkten Knochenschnitt. Acta anat. 51: 177-197 (1962)

(16) HONKOMP, I. — Zur Therapie der Osteomyelitis. Hippokrates 12, 466 (1967)

(17) JESSERER, H. — Knochenkrankheiten. Verlag Urban und Schwarzenberg, München - Berlin - Wien 1971

(18) KÄMMERER, H. und W. EGER — Tetracycline und Knochenstoffwechsel. Med. Welt I, 986 (1965)

(19) KEIL, A. und H. FRERK — Untersuchungen zur Tetrazyklinverfärbung wachsender Zähne und Kiefer. Wien. tierärztl. Mschr. 50, 350 (1963)

(20) KERN, E. — Allgemeine Chirurgie. Springer Verlag, Berlin - Heidelberg (1967)

(21) KNÖFLER, E. W. — Die biochemischen Induktionen bei der Knochenbruchheilung. Beilagenheft zu Band 104 der Zeitschrift Orthopädie (1967)

(22) KÜNTSCHER, G. — Primär Knochenheilung. Langenbecks Arch. Chir. 308, 452 (1964)

(23) KÜNTSCHER, G. — Septische und aseptische Osteomyelitis. Zbl. Schir. 34, 1430 (1954)

(24) LOSSE, H. — Osteomyelitis. Hippokrates 38, 459 (1967)

(25) MILCH, R. A., D. P. RALL and J. E. TOBIE — Bone Localization of the Tetracyclines. J. nat. Cancer Inst. 19, 87 (1957)

(26) OLERUD, S. and G. L. LORENZI — Triple Fluorochrome Labeling in Bone Resorption. J. Bone Jt. Surg. 52-A, 274 (1970)

(27) RAHN, B. A. und S. M. PERREN — Alizarinkomplexon - Fluorochrom zur Markierung von Knochen- und Dentinanbau. Experienta 28, 180 (1971)

(28) RAHN, B. A. and S. M. PERREN — Calcein Blue as a Fluorescent Label in Bone. Experienta 26, 519 (1970)

(29) RAHN, B. A. and S. M. PERREN — Xylenol Orange, a Fluorochrom Useful in Polychrom Sequential Labeling of Calcifying Tissuea. Stain Techn., 46, 125 (1971)

(30) RHINELANDER, F. W. — The Normal Microcirculation of Diaphyseal Cortex and Its Response to Frakture. J. Bone Jt. Surg. 50-A, 784 (1968)

(31) RHINELANDER, F.W., R. V. GRACILLA, R. S. PHILLIPS and — Microangiography in Bone Healing, III. Osteotomies with Internal Fixation. J. Bone Jt. Surg. 49-A, 1006 (1967)

(32) RHINELANDER, F.W., R. S. PHILLIPS, W. M. STEEL and J. C. BEER — Microangiography in Bone Healing, II. Displaced Closed Fraktures. J. Bone Jt. Surg. 50-A, 643 (1968)

(33) RITTMANN, W. W. und S. M. PERREN — Corticale Knochenheilung nach Osteosynthese und Infektion. Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1974

(34) SCHENK, R.
Zur histologischen Verarbeitung von unentkalkten Knochen.
Acta anat. 60, 3 (1965)

(35) SCHENK, R. and H. WILLENEGGER
Morphological Findings in primary Frakture Healing.
Symp. Biol. Hung. 7, 75 (1967)

(36) SCHENK, R. und H. WILLENEGGER
Zur Histologie der primären Knochenheilung.
Langenbecks Arch. klin. Chir. 308, 440 (1964)

(37) SCHMELZEISEN, H. und H. BILOW
Zur Behandlung der Tibiapseudarthrosen.
Fortschr. Med. 89, 705 (1971)

(38) SCHÖLLNER, D.
Form- und Funktionsstörungen am Bewegungsapparat nach Osteomyelitis im Kindesalter.
Hippokrates 12, 463 (1967)

(39) SCHRAMM, W.
Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Transplantation autoplastischer Spongiosa.
Hefte zur Unfallheilkunde 104 (1970)

(40) SCHWEIBERER, L.
Experimentelle Untersuchungen von Knochentransplantaten mit unveränderter und denaturierter Knochengrundsubstanz.
Ein Beitrag zur kausalen Osteogenese.
Hefte zur Unfallheilkunde 103 (1970)

(41) SEDLIN, E. and H. M. FROST
Bone Labeling as an Index of Tetracycline Administration.
Antibiot. Chemoth. 12, 476 (1962)

(42) SUZUKI, H. K. and A. MATHEUS
Two-Color Fluorescent Labeling of Mineralizing Tissues with Tetracycline and 2,4-Bis N,N'-Di-(Carbomethyl)Aminomethyl Fluorescein.
Stain Techn. 41, 57 (1966)

(43) URIST, M. R. and R. W. JOHNSON
Calcification and Ossification.
III. The Role of Local Transfer of Bone Salt in The Calcification of the Fracture Callus.
J. Bone Jt. Surg. 24-A, 47 (1942)

(44) URIST, M. R., R. MAZET, Jr. and F. C. McLEAN
The Pathogenesis and Treatment of Delayed Union and Non-Union.
J. Bone Jt. Surg. 36-A, 931 (1954)

(45) WACHSMUTH, W.
Osteomyelitiden.
Zbl. Chir. 74, 972 (1949)

(46) WELLER, S.
Vermeidung technischer Fehler bei der operativen Behandlung von Frakturen.
Chirurg 43, 100 (1972)

(47) WILLENEGGER, H., S. M. PERREN und R. SCHENK
Primäre und sekundäre Knochenbruchheilung.
Chirurg. 42, 241 (1971)

Lebenslauf

Am 25. Januar 1949 wurde ich, Paul Joseph Bambeck, als Sohn des kaufmännischen Angestellten Hermann Bambeck und seiner Ehefrau Berta, geb. Geiger, in Aschaffenburg geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1955 bis 1959 in Aschaffenburg. Danach trat ich in das Humanistische Gymnasium in Aschaffenburg über, das ich 1969 mit dem Abitur verließ.

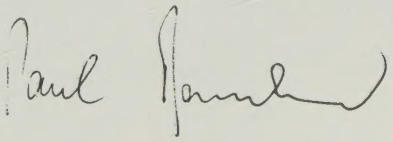
Zum Sommersemester 1971 begann ich nach Ableistung meiner Wehrpflicht an der Universität Würzburg das Medizinstudium. Im Dezember 1976 beendete ich mein Studium in Würzburg mit der Ablegung des medizinischen Staatsexamens.

Meine Medizinalassistentenzeit von Februar 1977 bis Ende Januar 1978 leistete ich in der Stiftsklinik Augustinum, Innere Abteilung, in Bad Windsheim, sowie auf der Chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Gerolzhofen ab.

Im Februar 1978 erhielt ich meine Approbation als Arzt.

Als Assistenzarzt arbeitete ich bis Mai 1979 weiter im Kreiskrankenhaus Gerolzhofen.

Seit Juni 1979 bin ich als Assistenzarzt in der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Erlenbach am Main tätig.



Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80